

Efecto de la reforestación sobre la calidad del suelo como indicador
para conservación de zonas afectadas por minería en la laguna de La
Herrera del municipio de Mosquera

María Camila Lancheros Díaz & Javier Francisco Zamora.
Julio de 2018.

Juan Sebastián Chiriví Salomón, MSc
Director Proyecto de Grado

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente ECAPMA.
Programa de Ingeniería Ambiental.

Efecto de la reforestación sobre la calidad del suelo como indicador
para conservación de zonas afectadas por minería en la laguna de La
Herrera del municipio de Mosquera

María Camila Lancheros Díaz Cód 1073237607
Javier Francisco Zamora Palma Cód 80.223.763

Proyecto Aplicado como opción de grado.

Juan Sebastián Chiriví Salomón, MSc
Director Proyecto de Grado
Docente de la Cadena de Formación Ambiental
Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente ECAPMA.
Programa de Ingeniería Ambiental.

Copyright © 2018 por María Camila Lancheros Díaz & Javier Zamora.
Todos los derechos reservados.

Agradecimientos

Agradecemos a Dios por estar en nuestras vidas para poder hacer de este proyecto una realidad.

Agradecemos a nuestros seres queridos que acompañan este proceso de manera directa e indirecta así como de formal moral, afectiva y que con su motivación impulsan los logros obtenidos a nivel académico, llenándonos de felicidad poder culminar este ciclo y compartirlo con ellos.

Agradecemos a la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD por brindarnos el soporte administrativo y académico por el apoyo del conocimiento y trámites necesarios, que encaminaron el proyecto de una manera positiva.

Agradecemos al director asignado de proyecto Juan Sebastián Chiriví, Ingeniero químico y microbiólogo, con maestría en Ciencias Biológicas - área Microbiología, por su dedicación y paciencia, así como direccionamientos proporcionados en la ejecución del proyecto.

Resumen

El presente proyecto fue llevado a cabo en el Humedal Laguna de la Herrera, establecido como el recurso hídrico natural con mayor extensión de la Sabana de Occidente del departamento de Cundinamarca. Dicho ecosistema cuenta con una extensión de aproximadamente 280 hectáreas que alberga gran cantidad de flora y fauna, nativa y migratoria. A pesar de ello, este ecosistema se encuentra rodeado por minería de extracción de materiales pétreos, lo que ha llevado a la degradación progresiva del mismo. El presente estudio busca contribuir a la generación de estrategias para recuperación de este humedal, en cuanto al efecto de la reforestación que se ha venido realizando en la zona sobre la calidad del suelo en términos físicoquímicos y microbiológicos, dando lugar a procesos de biofertilización y conservación como alternativa de solución a zonas afectadas por minería. Se evidenciaron características gredosas y rizomórficas de los suelos en la zona de estudio para las muestras de tipo profundo y superficial, respectivamente. Se observó un aumento progresivo de la composición de mohos y levaduras y el recuento de *Pseudomonas* se estimó como ausente. El porcentaje de carbono oxidable fue mayor en los suelos de tipo superficial, el pH es neutro y ligeramente ácido encontrando una disminución del pH en relación a

los suelos y las edades de las plantaciones, lo que puede estar relacionado con procesos de acidificación natural en los suelos. La composición bacteriana parece verse afectada por estos procesos de acidificación, que en combinación con la minería aledaña, pueden estar causando un impacto negativo en la zona de ronda de este ecosistema de humedal. Esta investigación es el primer estudio que realiza una evaluación biológica y fisicoquímica del proceso de restauración del humedal Laguna La Herrera.

Palabras claves: *acidificación, composición microbiológica, composición fúngica, humedal, Pseudomonas*

Abstract

The current research project was performed in the wetland Laguna de la Herrera, which was established as the biggest hydric resource from the Sabana de Occidente from Bogotá. This ecosystem has a geographical extension of aprox. 280 hectares, and is represented by a huge flora and fauna. Even that, there is mining of stony material extraction nearly to this lagoon, which is rapidly degrading this quality of soil and water. So the aim of this research was to contribute to the restauration of this wetland by the study of the reforestation processes. General physicochemical and microbiological analyses were done to evaluate if the reforestation processes are enhancing the quality of soil by biofertilization phenomenon. An increase of fungal composition and a decrease of pH were observed in soils according to the plantation ages, which it could be related with natural acidification processes. Conversely, bacterial composition seems to be affected by this condition. In combination with mining, the round zone from this wetland seems to be severely negative-affected. This research is the first study about biological and physicochemical evaluations of the restauration process of the wetland Laguna La Herrera.

Key words: *acidification, microbial composition, fungal composition, wetland, Pseudomonas.*

Tabla de Contenidos

Introducción e información general	1
Planteamiento del problema	4
Justificación	6
Objetivos	9
Objetivo General	9
Objetivos Específicos	9
Marco teórico	10
Recursos hídricos en Colombia	10
Laguna La Herrera	12
Problemática y gestión ambiental	13
Restauración ecológica de humedales	15
El suelo y sus características	16
¿Cuáles son sus características?	19
El suelo como hábitat para los microorganismos	19
Microorganismos aerobios	21
Hongos	22
Pseudomonas spp.	22
Características físico químicas	23
pH	23
Materia Orgánica	25
Humedad	25
Bacterias Anaerobias	26
Metodología	28
Lugar de muestreo	28
Muestreo	30
Análisis microbiológico	32
Análisis físico-químico	35
Análisis estadístico	36
Muestreo	38
Recuento de microorganismos indicadores de calidad de suelos	39
pH, contenido de humedad y carbono oxidable	39
* Se utilizó la Ecuación 1.	40
Soporte estadístico	41
Discusión y conclusiones	42

Lista de Referencias.....	49
Anexo 1	55
Anexo 2	59
Anexo 3	72
Anexo 4	73

Lista de tablas

Tabla 1. Geolocalización de los puntos de muestreo.....	31
Tabla 2. Condiciones de sustrato, temperatura y tiempo de incubación utilizadas para el análisis microbiológico de rutina para suelos....	34
Tabla 3. Caracterización tipo de suelo según edad y punto de muestreo	38
Tabla 4. Contenido de humedad de las muestras de suelo colectadas.	40
Tabla 5. Porcentaje de Carbono oxidable de las muestras de suelo colectadas.	40
Tabla 6. Valores P obtenidos por análisis de varianzas de dos factores.	41

Lista de Imágenes

Imagen 1. Humedal Laguna La Herrera. Fuente: Tomada de https://humedalessuescaylaherrera.wordpress.com/la-herrera/...	2
Imagen 2. Lugar de muestreo A) Ubicación del Humedal Laguna La Herrera, con escala de 5 km, B) Ubicación de zona de muestreo en el Humedal Laguna La Herrera, con escala de 100 m, C) Entrada a la zona de muestreo, con escala de 50 m, D) Fotografía de la entrada a la zona de muestreo. Fuente: Google Imágenes, 2018.	29
Imagen 3. Zonas toma de muestras. Fuente: Propia, fotografías recolectada en trabajo de campo.....	30
Imagen 4. Extracción de suelo para muestreo de calidad de suelos, A) Ubicación de punto de extracción, 200 cm de radio al árbol más cercano, B) Extracción de suelo superficial, C) Suelo superficial sin remoción de herbáceas, D) Extracción de suelo profundo con barretero artesanal.....	32
Imagen 5. Montaje para elaborar el recuento de bacterias esporuladas anaerobias con cámara de anaerobiosis. A) Montaje con indicador en tiempo = 0 h, B) Montaje con indicador en tiempo = 1 h.	35
Imagen 6. Gráficas de recuento de carga microbiana de las muestras de suelo colectadas. A) Recuento de Aerobios Mesófilos, B) Recuento de Bacterias Esporulantes Anaerobias, C) Recuento de Mohos y Levaduras.	38
Imagen 7. Gráfica de pH obtenido para las muestras colectadas.....	39

Introducción e información general

El humedal Laguna de la Herrera es un recurso hídrico natural estratégico, establecido como el de mayor extensión de la Sabana de Occidente del Departamento de Cundinamarca (Imagen 1). Este ecosistema integra territorio de los municipios de Mosquera, Madrid y Bojacá, cuenta con una extensión de aproximadamente de 280 hectáreas, y alberga gran cantidad de flora y fauna, tanto nativa como migratoria (Salazar Lopez Liliana, 2006). La administración Municipal de Mosquera actualmente se encuentra ejecutando labores de reforestación en esta área obedeciendo al Plan de Manejo Ambiental en lo que respecta a los modelos de restauración ecológica, estrategia utilizada para la conservación de este importante recurso. Así mismo, esta zona fue declarada dentro del PBOT como “zona de recuperación y rehabilitación con valores para la recreación, y la recuperación del patrimonio histórico y arquitectónico”, razón por la cual resulta de vital importancia propender mantener el equilibrio del ecosistema y los servicios que puede prestar al medio ambiente.



Imagen 1. Humedal Laguna La Herrera. Fuente: Tomada de <https://humedalessuescaylaherrera.wordpress.com/la-herrera/>

Uno de los componentes ambientales que resulta de gran valor para la Laguna de la Herrera es el uso sostenible de los suelos puesto que por sus características físico-químicas brinda diferentes servicios ecosistémicos como el almacenamiento de agua, regulación de ciclos biogeoquímicos, filtración del agua, recarga de acuíferos, así como minimización de concentración de los contaminantes que puedan existir en el recurso hídrico (Soraya, 2006). Diferentes estudios

muestran que los procesos de reforestación pueden mejorar la calidad de los suelos a través del incremento en la concentración de carbono, nitrógeno y carga microbiana (Miranda, 2007), (Revista de Salud Pública y Nutrición, 2011), (Goma, Tchimbakala, & Makosso, 2008).

Al pasar del tiempo, el suelo de la Laguna La Herrera se ha visto afectado debido al desarrollo de actividades mineras aledañas dedicadas a la extracción de materiales pétreos. Varios trabajos señalan el impacto que tiene el material particulado generado por este tipo de industria en la vegetación y en los suelos (Pérez & Sabogal, 2015) (Tovar, 2013). Por esta razón, en relación con los trabajos implementados de reforestación, se hace necesario realizar un estudio del efecto de la reforestación sobre la calidad del suelo en términos microbiológicos y físico-químicos. Este estudio es el primero en realizarse dando evidencia de la importancia de estas estrategias de reforestación como alternativa de solución a zonas afectadas por minería.

Planteamiento del problema

La obtención de minerales siempre ha sido una actividad que provee materiales para la construcción y elaboración de diferentes productos y procesos, lo cual facilita el desarrollo de la humanidad. Específicamente, la extracción de minerales pétreos es la más representativa debido al (Salazar Lopez Liliana, 2006) alcance industrial; sin embargo, el consumo excesivo ha ido destruyendo a su paso de manera indiscriminada el recurso del suelo, disminuyéndolo notoriamente y causando impactos a nivel ambiental catastróficos, pues se pierde cualquier servicio ambiental del ecosistema directo que se pueda ofrecer y de cualquier otro que esté estrechamente relacionado. De esta situación, no se salva el Humedal Laguna de la Herrera, pues se encuentra ubicada en cercanía a estas actividades mineras que allí se desarrollan. De acuerdo al artículo del tiempo año 2011 (Periódico El Tiempo, 2011) se tiene estipulado que la ronda de protección de la laguna es de 50 metros, lo cual quiere decir que a partir de esa distancia se considera como zona suburbana industrial y por ende esto permite que se ejerzan actividades industriales que cumplan con los requisitos ambientales exigidos por la CAR; adicionalmente, hay algunas industrias que se encontraban instaladas previa a la definición de esta ronda lo que genera una mayor

problemática de regulación. Según lo menciona el artículo de investigación de la (Universidad Nacional de Colombia, 2010) hay 12 empresas explotadoras que prácticamente están perforando las montañas que circundan el lugar, perjudicando su función principal, la recarga del agua para el humedal y la zona aledaña, ya que en tiempos secos nivela el agua subterránea en este lugar de la Sabana. Al mismo tiempo, esta actividad genera un inimaginable exceso de partículas volátiles que se dispensan en el entorno afectando la vegetación lo que originaría graves perturbaciones. Aunado a esto, la Fundación Humedales Bogotá (Moreno, 2011) realizó visita al sitio encontrando que el espejo de agua es escaso, teniendo en cuenta su extensión y que a pesar que hay bastante invasión de pasto en los procesos de reforestación, aclaran que el problema más relevante es la minería.

Justificación

Según Pérez y Colaboradores 2002 (Pérez C. y., 2002), los humedales representan un elemento esencial dentro del extenso panorama de los ecosistemas con los que cuenta el territorio nacional y local, jugando un papel dentro del ciclo hidrológico de la regulación en las cuencas hidrográficas, la minimización de riesgo por inundaciones, la retención de sedimentos y el fortalecimiento de la recarga de acuíferos; beneficios que a su vez son escenario para el hábitat de plantas y animales, dentro de los cuales se incluyen gran cantidad de especies en vía de extinción. Sin embargo, los impactos ambientales que estos ecosistemas han tenido básicamente son el efecto de un desarrollo desenfrenado en cada uno de los ordenamientos territoriales de cada región, simplemente abandono o desconocimiento de su importancia ambiental. Es así entonces que surge la preocupación de su conservación a nivel mundial en Ramsar, Irán, 1971 (Organización de las Naciones Unidas para la educación, la Ciencia y la Cultura, Unesco, 2017), donde se celebró la Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas, dejando ver la relevancia de los sistemas acuáticos. Por otro lado en la Cumbre de Rio de 1992 (Agenda 21) (UNESCO, 1992), Colombia adquirió un compromiso en el cual debe aunar esfuerzos

para dar prioridad a los recursos de agua dulce, la protección de los ecosistemas y la ordenación integrada de los recursos hídricos.

El Humedal Laguna de la Herrera es un enclave puesto que se ubica dentro de 3 territorios como lo son Bojacá, Mosquera y Madrid, resultando de gran valor para la Sabana Occidente puesto que es el recurso hídrico natural más grande y dado que por sus condiciones únicas es el ambiente propicio para el albergue de innumerables aves migratorias de grado internacional (Salazar Lopez Liliana, 2006)). No obstante teniendo en cuenta lo descrito el panorama para el Humedal Laguna de la Herrera no es muy alentador puesto que se encuentra en estado de vulnerabilidad debido a la afectación causada por la explotación minera cercana, la cual está generando una degradación de los elementos que la componen; entre ellos el suelo, el cual es un recurso trascendental para la vida y que transfiere diferentes elementos de los seres bióticos a los abióticos, este es un eje vital en el ecosistema que lo rodea. La actividad minera a cielo abierto desprende partículas volátiles causando inhibición del crecimiento de la vegetación, obstrucción a los ciclos naturales, generando cambio de su estructura. Por consiguiente existen diversas estrategias de conservación y restauración ecológica dentro de las cuales se encuentra la reforestación, que genera cambios determinantes y

positivos en el suelo (Fernández, Ramirez, & González, 2013). Por tal razón, se hace necesario realizar un estudio del efecto de la reforestación que se ha venido efectuando en la zona de la Laguna de la Herrera sobre la calidad del suelo en términos microbiológicos, dando lugar al inicio de procesos de biofertilización y conservación como alternativa de solución a zonas afectadas por minería, contribuyendo así a salvaguardar este ecosistema.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto de la reforestación en la laguna de La Herrera del Municipio de Mosquera sobre la calidad del suelo como indicador para conservación de zonas afectadas por minería.

Objetivos Específicos

- Determinar la calidad de los suelos en áreas reforestadas y no reforestadas de la Laguna de La Herrera a través de la revisión básica de parámetros físico-químicos y microbiológicos.
- Determinar la incidencia de la reforestación y la edad de las siembras en la calidad del suelo.
- Estimar si la reforestación puede ser considerada una herramienta clave para la restauración y conservación de los ecosistemas naturales y recursos hídricos.

Marco teórico

Recursos hídricos en Colombia.

El territorio Colombiano es un país que presenta gran oferta del recurso hídrico encontrando diferentes clases de aguas, como lo son aguas superficiales, aguas lluvias, aguas marinas y oceánicas, aguas termo minerales, aguas subterráneas, incluso agua proveniente de los glaciales (García, Piñeros, Bernal Quiroga, & Ardila Robles, 2012). Es así entonces que el país tiene una gran riqueza hídrica, la cual se refleja acorde a la amplia cobertura superficial de aguas que lo baña, permitiendo el almacenamiento de aguas subterráneas y la subsistencia de un importante número de cuerpos de agua lenticos (pantanos y lagos) y áreas de humedales (Gonzalez, 2017). Colombia se caracteriza por tener extensas sabanas, selvas húmedas y altas montañas, del mismo modo tiene un potencial hídrico inigualable en el cual se puede encontrar gran cantidad de reservorios como lo son los páramos, resaltando también la ubicación geográfica del país en cercanía a la zona del trópico lo que lo hace mucho más rico en este recurso (Arias, Bayona , & Sandoval , 2010). Actualmente, existen más de 1.000 lagunas en el país, la gran mayoría localizadas en las zonas de alta montaña. Las cuencas altas transportan agua que viene

de precipitaciones, granizo, así como deshielo de glaciares, lo que a su vez forma una red que amortigua sedimentos y caudales, estableciendo una relevante reserva hídrica. (IDEAM, 2015).

Humedal: De acuerdo a lo establecido en el convenio RAMSAR a los humedales se les define como “extensiones de marismas, pantanos o turberas cubiertas de agua, sean estas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros” (Ramsar, 1971). También se forman por el arrastre y acumulación de sedimentos de los ríos, así como por subida del nivel del agua subterránea debido a la saturación en los tiempos fuertes de lluvia, incluso por inundaciones en el área de cobertura. Las lagunas regulan y estabilizan los caudales gracias a su capacidad receptora que incluso puede amortiguar fenómenos importantes como avalanchas y flujos de lodo (Betancur-Vargas, y otros, 2017).

Laguna La Herrera

Algunas de las lagunas más grandes de Colombia son el Lago La Cocha, Guamués ubicadas a una altura de 2760 m, en lo profundo del Nariño, cuenta con un área de aprox más de 40 km² y una longitud de 25 km; es bastante profunda de aguas transparentes y de hermosos contrastes. Reconocida por su esplendor se resalta la laguna de Tota, situada en Boyacá, a algunos kilómetros de Sogamoso y a más de 3000 m sobre el nivel del mar, con un área aproximada de 5,6 km² y una longitud de 12 km. En la lista sigue la laguna del Otún, La laguna Magdalena, la laguna El buey, la Grande, la laguna Gavilanes, la laguna Fúquene, la laguna Suesca y Guatavita. Dentro de esta gran variedad de lagunas se encuentra una de gran importancia la laguna de La Herrera, la cual se encuentra ubicada en el municipio de Mosquera Cundinamarca, al sur occidente de la cuenca del rio Bojacá la cual consta de territorios de municipios como Mosquera, Madrid y Bojacá, localizada a cinco (5) kilómetros de la cabecera municipal Tiene 1,5 km de ancho y 3 km de largo, con una profundidad de dos (2) metros y una extensión de 280 hectáreas, siendo este el recurso hídrico natural más grande de la Sabana. La laguna de la herrera se origina a partir de la desecación del lago Humbolth, formada por una

serie de depresiones comprendidas entre las lomas de Mondoñedo y Vista Hermosa, que rodean la laguna por el sur y por el norte Serrezuela de Madrid. El ambiente de la laguna representa un paisaje único donde confluyen zonas de pantano y secas; alberga especies de fauna y flora en peligro de extinción así como aves migratorias originarias de otras latitudes, entendiéndose como un ecosistema de alta riqueza biológica. Fue declarada Reserva Hídrica mediante Acuerdo CAR No. 23 de Julio de 2006. Atendiendo a la metodología por dada el Ministerio de Ambiente, vivienda y Desarrollo Territorial (Resolución No. 196 de 2006), formuló el Plan de Manejo Ambiental para el Humedal (Acuerdo No. 21 de agosto 4 de 2009), que adopta su zonificación y establece los usos y restricciones para cada zona, definiendo usos principales, compatibles, condicionados y prohibidos para un período de diez (10) años (García, 2010).

Problemática y gestión ambiental

Acorde al Plan de Manejo ambiental de la Laguna de la Herrera Formulado por la CAR se han tenido en cuenta para su elaboración componentes como el Hidrológico, faunístico, limnológico, social, los cuales en concordancia con su objetivo busca garantizar el uso sostenible y el mantenimiento, diversidad y productividad biológica

(Salazar Lopez Liliana, 2006). En sus alrededores la amenazan actividades como la explotación minera la cual consiste en la utilización de diversas herramientas y maquinarias especiales, junto con recursos humanos, que permitirán obtener aquellos minerales que se generaron y permanecen excepcionalmente en algunos suelos tras los diversos procesos geológicos acaecidos en nuestro planeta. Siguiendo este asunto, dentro de la explotación de minas existen dos maneras que tienen que ver con la ubicación de la reserva de minerales. Principalmente se debe mencionar la destrucción de los suelos y como contrapartida la aparición de nuevos suelos que no son los naturales (Definición ABC). Esto amenaza el equilibrio natural del sistema, provocando así dificultad en el desarrollo de la vegetación que no presentará las mismas condiciones de los suelos intervenidos a los naturales. Por otro lado nos encontramos con la contaminación del recurso agua y de aire a raíz de las fuertes concentraciones de azufre y plomo que se expanden con la explotación, que para este caso la Laguna de la Herrera objeto de nuestro estudio (Suárez, 2012), corre el riesgo de presentar este tipo de contaminación debido a que muy cerca se encuentran canteras y demás empresas que se dedican a la explotación de materiales pétreos, teniendo en cuenta que aún dichas empresas no muestran ningún tipo de responsabilidad social con el

medio ambiente como con los habitantes que se encuentran en la zona además del sin número de ecosistemas estratégicos que se forman, entorno a la Laguna.

Restauración ecológica de humedales

La restauración ecológica de humedales resulta de vital importancia para los diferentes ecosistemas tanto como migratorios como locales, siendo estos un refugio durante la migración y un punto de referencia, teniendo en cuenta con lo descrito que no solo se hace necesario conservarlos, sino a su vez mejorar su ambiente, para ello es importante tener en cuenta la restauración ecológica y garantizar su buen desarrollo y crecimiento, para lograr este fin es necesario comenzar realizando un estudio al sustrato vivo y dinámico el cual representa uno de los ecosistemas más altamente biodiverso (Programa LIFE de la Unión Europea, 2004). Los microorganismos del suelo ayudan al mantenimiento de la fertilidad química, física y biológica del suelo. Transforman nutrientes inorgánicos, con el fin de contribuir en la absorción de los mismos en la planta; además favorecen la mineralización y descomposición de la materia orgánica.

El suelo y sus características

El suelo es una capa estrecha que con el tiempo se ha ido formado gradualmente, con la disgregación de las rocas superficiales por la acción del agua, el viento y los cambios de temperatura. La composición del suelo está dada por agua, aire, minerales, materia orgánica, organismos vegetales pequeños y animales. Los restos de animales y la vegetación que se encuentra en el suelo tanto en la parte superficial como subterránea son descompuestos por los microorganismos, los cuales son convertidos en materia orgánica y a su vez incorporados con el suelo (Porta Casanellas, Lopez, Acevedo , & Roquero, 2003)

- Los minerales resultan de la roca madre, la cual se desintegra de forma lenta. También se pueden encontrar minerales producto del viento y el agua, que por arrastre provienen de áreas afectadas por la erosión.
- La materia orgánica se forma debido a la descomposición de los animales muertos y la vegetación. A su vez es rica en minerales y puede albergar gran cantidad de agua.
- Se puede encontrar dos tipos de microorganismos el primer tipo corresponde a los que desintegran la materia orgánica como lo

son lombrices e insectos y los que la descomponen liberando los nutrientes (bacterias y hongos). Los microorganismos del segundo tipo habitan dentro del suelo y hacen parte del proceso en el cual se reutiliza la materia orgánica por parte de las plantas, a su vez ayudan a pulverizar las rocas. Por lo tanto los insectos y las lombrices crean poros que dan paso a la aireación y el albergue del agua así como el crecimiento de raíces (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1996).

- Los espacios que hay entre las partículas del suelo son ocupados por agua y aire distribuidos según el tamaño y la forma de estos poros, es importante mencionar que cuando hay bastantes poros de tamaño pequeño pueden producirse suelos húmedos y compactos generando un crecimiento bajo en las raíces debido a que es muy difícil absorber agua por parte de las plantas habiendo poros muy pequeños, entendiendo que todos los seres vivos y organismos que pertenecen a la biota edáfica necesitan agua para existir. En las plantas el agua es utilizada para el transporte de nutrientes, conservar los tejidos, así como efectuar el proceso de respiración donde se absorbe el agua desde la raíz de las plantas, por lo que a su vez también se realiza la

fotosíntesis. Ante una escasez de agua en el suelo, se ve interrumpido el desarrollo y crecimiento de la vegetación, dando a lugar a la muerte de estos seres vivos. Por el contrario, si hay exceso de agua en el suelo el agua desplaza el aire (oxígeno) del mismo, teniendo en cuenta que el oxígeno da lugar al proceso de respiración en las raíces. El aire también aporta gran cantidad de nitrógeno elemento que es transformado por las bacterias siendo utilizado por las plantas. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1996).

La materia orgánica y los microorganismos proporcionan nutrientes y se enlazan las partículas minerales entre ambos. Por tal forma, establecen condiciones para que las plantas respiren, absorban agua y nutrientes y desarrollen sus raíces. Los hongos, lombrices y bacterias originan humus, este humus retiene nutrientes, es una forma estable de materia orgánica agua que ayudan a evitar la erosión. En general, al realizar un manejo sostenible del suelo se ayuda a mejorar la actividad de los microorganismos, conservando una cantidad adecuada de materia orgánica.

¿Cuáles son sus características?

Las características de cada suelo dependen de varios componentes. Algunos de los más importantes son el tipo de roca que los originó, su antigüedad, la vegetación, el relieve, el clima y los animales que hábitat allí, además de las transformaciones causadas por la actividad humana. El tamaño de las partículas minerales las cuales son formadas por el suelo determinan las propiedades físicas: estructura, aireación, textura, capacidad de drenaje del agua. (Ecología, 2004). Los gránulos del suelo son más grandes en los arenosos, se trabajan con facilidad puesto que son sueltos, pero por el contrario los surcos se desmoronan y la infiltración del agua se genera de manera rápida. Los tipos de suelos limosos presentan gránulos de tamaño intermedio, contiene pocos nutrientes y son pesados. Los arcillosos están formados por partículas bastante pequeñas, son pesados, no se desecan ni se drenan fácilmente y contienen cantidad de reservas de nutrientes. Son fértiles, sin embargo difíciles de trabajar cuando están muy secos, al secarse se endurecen y crean terrones.

El suelo como hábitat para los microorganismos

Se llama suelo a la parte externa de la corteza terrestre, proveniente de la meteorización de rocas y con características diferenciadas entre las mismas. El suelo se puede considerar como un sistema de

interacción dinámico entre tres fases: una fase sólida, constituida por materia mineral y orgánica, una fase líquida, y una fase gaseosa (aire) que compone la atmósfera del suelo. La composición y el tipo de la materia mineral está dado por las características de las rocas del subsuelo, también de los procesos edáficos que se hayan presentado en su formación. La cuota inorgánica es relevante por su influencia en la disponibilidad de aireación, nutrientes y retención de agua, etc. La materia orgánica proviene de la actividad de los distintos organismos vivos del suelo, composición, encontrando una cantidad variable, principalmente en lo que respecta a la función del tipo de cubierta vegetal. (Asociación Española de Ecología Terrestre AEET, 2005). Lo que queda del volumen del suelo está básicamente constituido por espacios porosos, ocupados por los gases que constituyen la atmósfera edáfica y agua. La porosidad es entendida como la cantidad y tamaño de los poros depende de la textura, determinada por la cantidad de limo, arena y arcilla, así como la estructura y el contenido en materia orgánica. Los factores previstos determinan a su vez la capacidad de retención de agua del suelo, el movimiento y la composición gaseosa de su atmósfera. Caracterizando a nivel general la atmósfera del suelo es rica en dióxido de carbono y baja en oxígeno, debido al resultado de la respiración aeróbica de raíces de plantas, microorganismos y

animales. No obstante, cuando se provocan condiciones de anaerobiosis principalmente por saturación de agua en los poros del suelo, surgen en la atmósfera del suelo gases como óxido nitroso, metano y nitrógeno gaseoso, consecuentes de actividad respiratoria anaeróbica bacteriana. La composición de la atmósfera del suelo como el contenido en agua son factores que varían ampliamente.

Microorganismos aerobios

Se cuentan con diversas metodologías para realizar la determinación de la cantidad de microorganismos en el suelo o en agua tanto directas como indirectas, dentro de estos métodos podemos hacer referencia al más usado es la dilución en placa, esta es una técnica indirecta para la cuantificación, sin embargo no obstante suministra la medición de la viabilidad microbiana, también nos da la opción de establecer de forma indirecta e potencial de biodegradación en un suelo contaminado, uno de los aspectos a resaltar es que para su realización no se requiere de mucho material, hay que tener en cuenta que por lo general la cuenta arrojada por el estudio en la mayoría de ocasiones es entre 10 y 100 veces más baja que la obtenida por cuenta directa en microscopio. El método de la dilución en placa está fundamentado en que cualquier célula que sea viable y se inocule en un medio de cultivo se

multiplicara y nos arrojará datos de sencilla cuantificación como lo son la formación de colonias en agar nutritivo (Hernandez, 2016).

Hongos

A los hongos los podemos hallar en distintos hábitats, aunque la mayoría habitan en el suelo y llevan a cabo una importante función en la mineralización del carbono, si se comparan los hongos y las bacterias por lo general se evidencia que ellos tienen necesidades alimenticias muy sencillas aunque su desarrollo sea más demorado y por esta causa es necesario un mayor tiempo para su incubación en el cultivo, a la hora de realizar el aislamiento del cultivo y realizar el conteo de la gran mayoría de los hongos se realiza el aprovechamiento de ciertas características especiales con las que cuentan ellos, como lo es la su tolerancia a los PH ácidos y predilección por medios de cultivos con una alta cantidad de azúcares de fácil degradación, adicional a esto la resistencia que presentan a la penicilina que al ser adicionados a los medios de cultivo disminuyen drásticamente la cantidad de bacterias contaminantes (Delgado, 2018).

Pseudomonas spp.

Las *Pseudomonas* colonizan de modo efectivo las raíces de las plantas promoviendo el crecimiento de las plantas de una manera estable disminuyendo notablemente la llegada de enfermedades causadas por

hongos patógenos que se encuentran en el suelo. Este crecimiento vegetal, está determinado por la supresión de microorganismos patógenos más o menos importantes, al igual también son promotoras del crecimiento vegetal por la estimulación de las acciones beneficiosas de otros microorganismos que son asociados a las raíces como las micorrizas cuando este crecimiento vegetal se realiza en ausencia de otros microorganismos se atribuye al aumentos de la disponibilidad de nutrientes, como lo son el nitrógeno o el fosfato, esto es causado por la producción de fitohormonas que estimulan el crecimiento vegetal (Pedraza, Teixeira, & Fernández, 2010).

Características físico químicas

pH

El pH es una característica química que en el suelo juega un papel importante para el desarrollo de los seres vivos dentro de los cuales también contamos a los microorganismos y las plantas, el pH nos hace referencia a la concentración de iones activos de hidrogeno que se lleva a cabo en la interface liquida de los suelos, y esto es por la interacción de componentes sólidos y líquidos, la concentración de los iones de hidrogeno juega un papel muy importante en los procesos físicos, químicos y biológicos en el suelo (Fernandez, 2006). Esta

acidez en el suelo es causada por la pérdida de las bases en los suelos de zonas con mucha lluvia por causa de la disolución de las mismas sales las cuales pasan por el proceso de percolación y se pierden por el procesos de lixiviación en unas muy altas proporciones, los lugares que ocupaban las bases en el suelo se remplazan por el ion de hidrogeno que cando ocupan dicho lugar genera la reducción del pH y también genera la toxicidad en la plantas. Teniendo en cuenta esto, el crecimiento de las plantas en suelos tanto ácidos como alcalinos tienen como consecuencia que algunos de los nutrientes sean altamente insolubles cuando el pH es alto y así mismo otros son menos disponibles cuando el PH es bajo y esto es debido a que la disponibilidad máxima para la gran mayoría d los nutrientes ocurre en rangos aproximados de pH 6.5 A 7.5, de esto se puede denotar la importancia del pH en el suelo ya que regula las propiedades químicas ya que determina la disponibilidad del resto de los cationes para las plantas hay que tener en cuenta que el pH del suelo influye en la actividad microbiana del suelo. (López E. P., 2013) Las bacterias se desarrollan mejor en pH neutro y los hongos filamentosos en pH ácidos. Las bacterias se desarrollan mejor en ph neutro y los hongos filamentosos en pH ácidos.

Materia Orgánica

La acumulación de todos los residuos vegetales y animales, es llamada materia orgánica así como de las células microbiales depositadas en el suelo y que se encuentran en proceso de descomposición, siendo esta una importante fuente de energía necesaria para la actividad y el metabolismo que se encuentran en el suelo y adicionalmente como sustrato para la adquisición de nutrientes de vital importancia para las plantas. El MOS (Materia Orgánica del Suelo) es una medida determinada por controles bióticos como lo son el tipo de plantas, producción bacteriana, abundancia de producción, especies de plantas, adicional a esto también son importante controles ambientales, como lo son la temperatura, contenido de agua y la textura del suelo. Es de gran importancia la preservación de la Materia Orgánica del Suelo teniendo en cuenta que mejora de forma notable la porosidad y la estructura del suelo generando una mejora en los cultivos. En este momento la materia orgánica juega un papel muy importante en la fertilidad de los suelos ya que por sus características lo convierte en un aporte vital para el sistema edáfico (Pascual & Venegas, 2018).

Humedad

Como todos lo sabemos el agua juega un papel esencial para todos los seres vivos que habitamos en el planeta ya que tiene participación en

forma molecular en diversas reacciones metabólicas en la células, al igual que realiza funciones como solvente y transporte de nutrientes desde el suelo hasta las plantas y en su interior adicional a esto ayuda con el proceso de degradación y descomposición que sufren las rocas y los minerales, también ioniza los micro y los macronutrientes que las plantas adquieren del suelo, haciendo que de esta manera la materia orgánica se degrade de una manera más fácil. Ahora cuando el agua por alguna condición es excesiva se presenta el problema de la lixiviación de sales y de algunos otros compuestos (Fernandez, 2006).

Bacterias Anaerobias

Dentro del proceso fermentativo de las bacterias anaerobias se encuentran una serie de procesos, que entre sí interactúan, en una cadena de reacciones complejas metabólicas en ausencia de oxígeno, siendo este parte fundamental de los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, carbono y azufre, entre muchos más. Los mencionados procesos metabólicos se han dividido en 3 grupos o etapas principales: 1) hidrólisis y fermentación, 2) acetogénesis y 3) metanogénesis; la hidrólisis de sólidos insolubles se involucra en la etapa 1 del proceso, quiere decir coloides orgánicos (proteínas) o partículas orgánicas

(celulosa o hemicelulosa), en compuestos solubles simples que pueden ser absorbidos a través de la pared celular, para que luego, las moléculas hidrolizadas hayan sido catalizadas por bacterias fermentativas ácidos grasos y alcoholes, obteniendo como resultado de este proceso, la producción de dióxido de carbono e hidrógeno. Posteriormente, en la acetogénesis, mediante la reducción del CO₂ se produce alcoholes y a través de la oxidación de ácidos grasos de cadena corta se produce ácido acético

El paso tres corresponde a la metanogénesis, la cual es llevada a cabo por arqueas, quienes obtienen su energía de la transformación de un número restringido de sustratos a metano. (Corrales, Antolinez Romero, Bohoquez Macías, & Corredor Vargas, 2015)

Metodología

Lugar de muestreo

El estudio se realizó en la Laguna La Herrera, la cual se encuentra localizada a 20 km de Bogotá en la parte occidental, en la vereda Balsillas dentro de la jurisdicción del municipio de Mosquera, pasando de la transición entre el clima húmedo y subhúmedo (Salazar Lopez Liliana, 2006), a 2550 msnm. La región subxerofítica del Humedal Laguna de la Herrera es un enclave que se encuentra ubicado en el límite entre el sur occidente de la Sabana de Bogotá, partiendo desde el valle bajo del río Tunjuelo hasta cerca de Bojacá con un rango altitudinal de 2500-2900 m, lo que refiere un área seca alto andina (Salazar Lopez Liliana, 2006). El lugar de muestreo se encuentra a 3.6 km de la vía Mosquera-La Mesa doblando a la derecha por el segundo puente sobre el Río Basillas (Imagen 2). Se seleccionaron tres zonas de plantación: una madura con 6 años de haberse sembrado, una joven con 6 meses y una sin plantaciones (Imagen 3). El muestreo se realizó a inicios de julio del 2018.

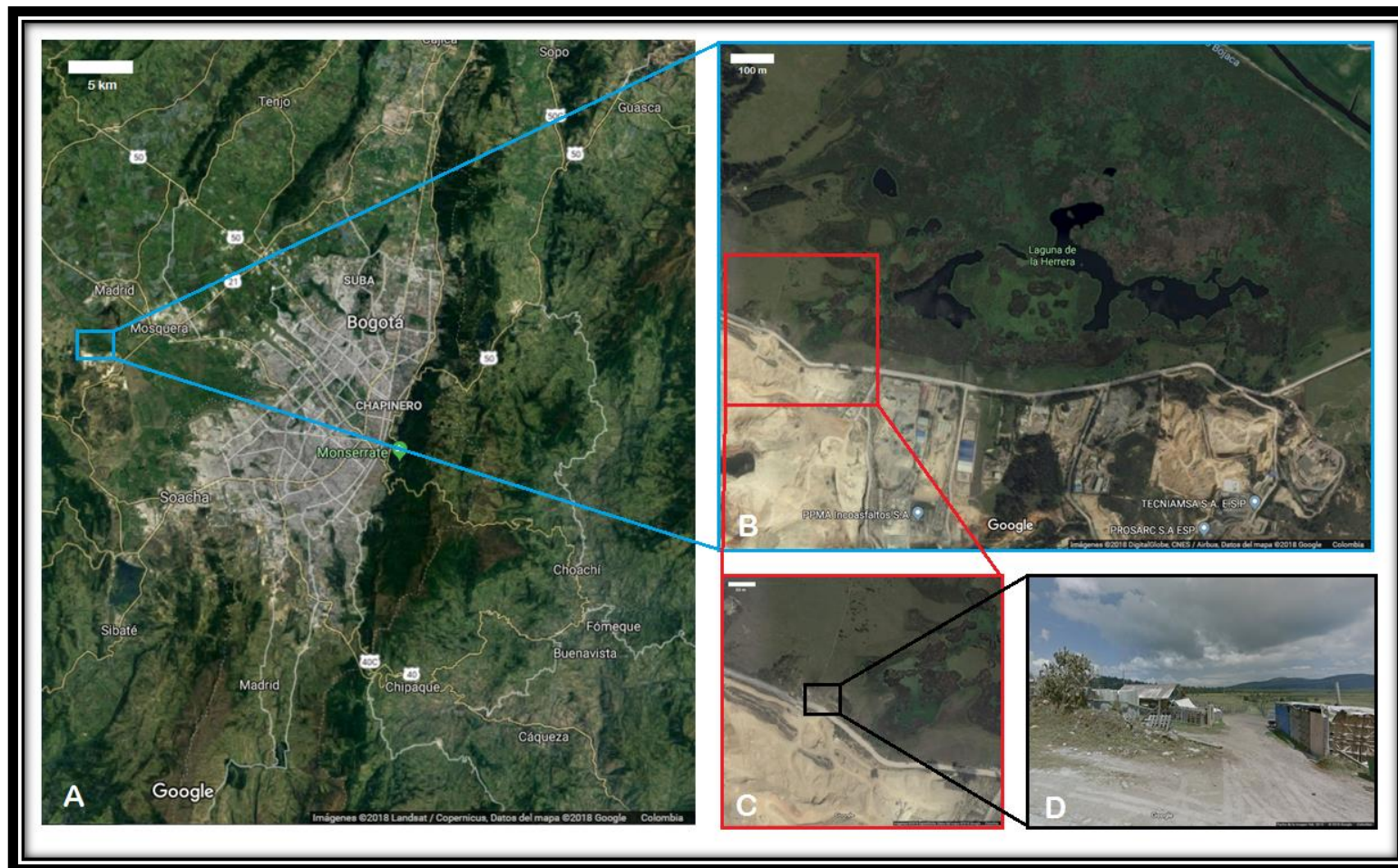


Imagen 2. Lugar de muestreo A) Ubicación del Humedal Laguna La Herrera, con escala de 5 km, B) Ubicación de zona de muestreo en el Humedal Laguna La Herrera, con escala de 100 m, C) Entrada a la zona de muestreo, con escala de 50 m, D) Fotografía de la entrada a la zona de muestreo. Fuente: Google Imágenes, 2018.



Imagen 3. Zonas toma de muestras. Fuente: Propia, fotografías recolectada en trabajo de campo

Muestreo

Se realizaron transeptos a lo largo de cada una de las zonas de estudio y se tomaron muestras de suelo a distancias equidistantes entre sí y a 1 m de radio de distancia del árbol más cercano al punto dispuesto. Cada punto de muestreo fue geolocalizado (Tabla 1). El procedimiento establecido por Wu y colaboradores (2018), con algunas

modificaciones, fue utilizado para la colecta de los suelos para su análisis. Brevemente, se tomaron dos tipos de muestras por cada punto: capa superficial (capa A0, 0-2 cm, con la eliminación de la cobertura herbácea) y capa inferior (B capas, 18-20 cm). Cada muestra realizada consistió en 150 g de suelo, a los que se les removió cualquier material vegetal de tamaño visible y que fueron depositados en bolsas de sello hermético para su conservación a baja temperatura y en oscuridad hasta su análisis en el laboratorio (Imagen 4).

Tabla 1. Geolocalización de los puntos de muestreo.

ITEM	Zona de Siembra Madura	Zona de Siembra Joven	Zona Sin Reforestar
Primer Punto	latitud norte de 4° 41' 27.5''(N) y longitud oeste de 74° 17'02.2'' (W)	latitud norte de 4° 41' 24.7''(N) y longitud oeste de 74° 17'02.8'' (W)	Latitud norte de 4° 41' 21.9''(N) y longitud oeste de 74° 17'02.8'' (W)
Segundo Punto	latitud norte de 4° 41' 26.2''(N) y longitud oeste de 74° 17'04.3'' (W)	latitud norte de 4° 41' 24.6''(N) y longitud oeste de 74° 17'03.5'' (W)	latitud norte de 4° 41' 20.9''(N) y longitud oeste de 74° 17'03.1'' (W)
Tercer Punto	latitud norte de 4° 41' 25.1''(N) y longitud oeste de 74° 17'04.9'' (W)	latitud norte de 4° 41' 25.0''(N) y longitud oeste de 74° 17'03.8'' (W)	latitud norte de 4° 41' 21.2''(N) y longitud oeste de 74° 17'03.7'' (W)



Imagen 4. Extracción de suelo para muestreo de calidad de suelos, A) Ubicación de punto de extracción, 200 cm de radio al árbol más cercano, B) Extracción de suelo superficial, C) Suelo superficial sin remoción de herbáceas, D) Extracción de suelo profundo con barrenero artesanal.

Análisis microbiológico

Para conocer la carga microbiana de los suelos y con el fin de estimar la calidad de los mismos, se realizó un análisis de rutina microbiológico para suelos, que consiste en determinar el recuento de microorganismos mesófilos aerobios (RAM), recuento de *Pseudomonas* spp (RP), recuento de bacterias esporuladas anaerobias (RBEA) y recuento de mohos y levaduras (RML), como lo establece Vanegas López (2015). De manera general, cada recuento parte de 10 g de suelo, previamente diluido en 90 mL de agua destilada estéril, y por medio de diluciones seriadas se disminuye la carga microbiana facilitando su recuento en placa al cultivarlo en los respectivos medios

y condiciones de cada análisis. Los medios de cultivo, las condiciones de temperatura y el tiempo de incubación utilizados se muestran en la Tabla 2. La siembra de RBEA se realizó en profundidad, es decir las alícuotas de muestras diluidas se mezclan con el agar fundido. Para asegurar condiciones de anaerobiosis en RBEA, se utilizaron cámaras de anaerobiosis, sobres de AnaeroGenTM de 2.5L y verificados con indicador anaeróbico con solución de resazurina (Oxoid) (Imagen 5). De estos análisis, se obtienen resultados numéricos asociados a las unidades formadoras de colonia (UFC) por 10 gramos de suelo. Todo el procedimiento se realizó por duplicado. El proceso de preparación de materiales: elementos estériles y medios de cultivo, es mostrado en el Anexo 1. Los protocolos paso a paso son mostrados en Anexo 2.

Tabla 2. Condiciones de sustrato, temperatura y tiempo de incubación utilizadas para el análisis microbiológico de rutina para suelos.

Análisis	Medio de cultivo	Temperatura (°C)	Tiempo de incubación (días)
RAM	Agar de Conteo en Placa (PCA)	37	2
RP	Agar Cetrimide	37	2
RBEA	Agar de Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS)	37	2
RML	Agar Extracto de Malta No. 1 (AM) suplementado con 250 mg L ⁻¹ de cloranfenicol	Ambiente	10



Imagen 5. Montaje para elaborar el recuento de bacterias esporuladas anaerobias con cámara de anaerobiosis. A) Montaje con indicador en tiempo = 0 h, B) Montaje con indicador en tiempo = 1 h.

Análisis físico-químico

Con el fin de interpretar mejor los resultados obtenidos a nivel microbiológico, se cuantificaron tres parámetros básicos físico-químicos de los suelos muestreados: pH, contenido de humedad y carbono oxidable. El pH se midió a una solución acuosa del suelo en una proporción 1:1 con un pHmetro calibrado (Globe, 2005). El contenido de humedad se calculó mediante la diferencia del peso normal de cada muestra y su posterior deshidratación por calor seco a 60 °C (Ecuación 1) (Organización Meteorológica Mundial-cap 4, 2011). El carbono oxidable se cuantificó mediante la reacción de 0.5 g de

suelo seco diluido en 10 mL de una solución de dicromato de potasio 0.17 M; dicha reacción se paró en 20 mL de ácido sulfúrico y se realizó lectura espectrofotométrica a 620 nm. El cálculo se estableció con un patrón de sacarosa y mediante la Ecuación 2 (McKean, 1993). El proceso de preparación de materiales: alistamiento del suelo y preparación de sustancias, es mostrado en el Anexo 1. Los protocolos paso a paso son mostrados en Anexo 2.

Ecuación 1:

$$\% Humedad = \left(\frac{g \text{ Peso seco} - g \text{ Peso húmedo}}{g \text{ Peso húmedo}} \right) * 100\%$$

Ecuación 2:

$$\% CO = \left(\frac{mg \text{ C}}{g \text{ muestra}} * \frac{1}{10} \right) * 100\%$$

Análisis estadístico

Todas las mediciones contaron con media y desviación estándar con el fin de mejorar el procesamiento de los datos. Adicionalmente, se realizó un análisis de varianzas con una significancia del 0.05 con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre las poblaciones de los datos obtenidos de las diferentes zonas de estudio. Se utilizó

Microsoft Excel 2010 (ME2010) para realizar todos los análisis numéricos. La hipótesis nula de este análisis corresponde a que los análisis microbiológicos y físico-químicos de las tres zonas de estudio no presentan diferencias significativas entre sí, siendo la hipótesis alterna la opuesta y estimando que, entre mayor antigüedad de reforestación, son mejores los indicadores.

Resultados

Muestreo

Los suelos de tipo profundo colectado, en todos los puntos de muestreo geolocalizados (Tabla 1), presentaron características principalmente gredosas: grisáceas o parcialmente marrones, compactas y de poca maleabilidad; por otro lado, los suelos de tipo superficial en todos los puntos de muestreo presentaron características rizomórficas: con abundante raíz, parcialmente gredosa, principalmente marrón y de mayor maleabilidad que aquellas de tipo profundo (Tabla 3).

Tabla 3. Caracterización tipo de suelo según edad y punto de muestreo

Zona	Caracterización tipo de suelo
No reforestada	
Superficial	Parcialmente gredoso
Profundo	Gredoso
6 Meses	
Superficial	Parcialmente Gredoso
Profundo	Gredoso
6 Años	
Superficial	Parcialmente gredoso
Profundo	Gredoso, compacto

Recuento de microorganismos indicadores de calidad de suelos

El RAM, RBEA y RML son mostrados en la Tabla 1 del Anexo 4 e Imagen 6. El RP siempre fue ausente para todas las muestras. De manera general, se observan resultados variables de acuerdo a la carga microbiana observada en relación a los diferentes grupos de microorganismos observados, sin embargo, se observa una tendencia a aumentar la carga de hongos en suelos profundos en relación a la edad de las plantaciones.

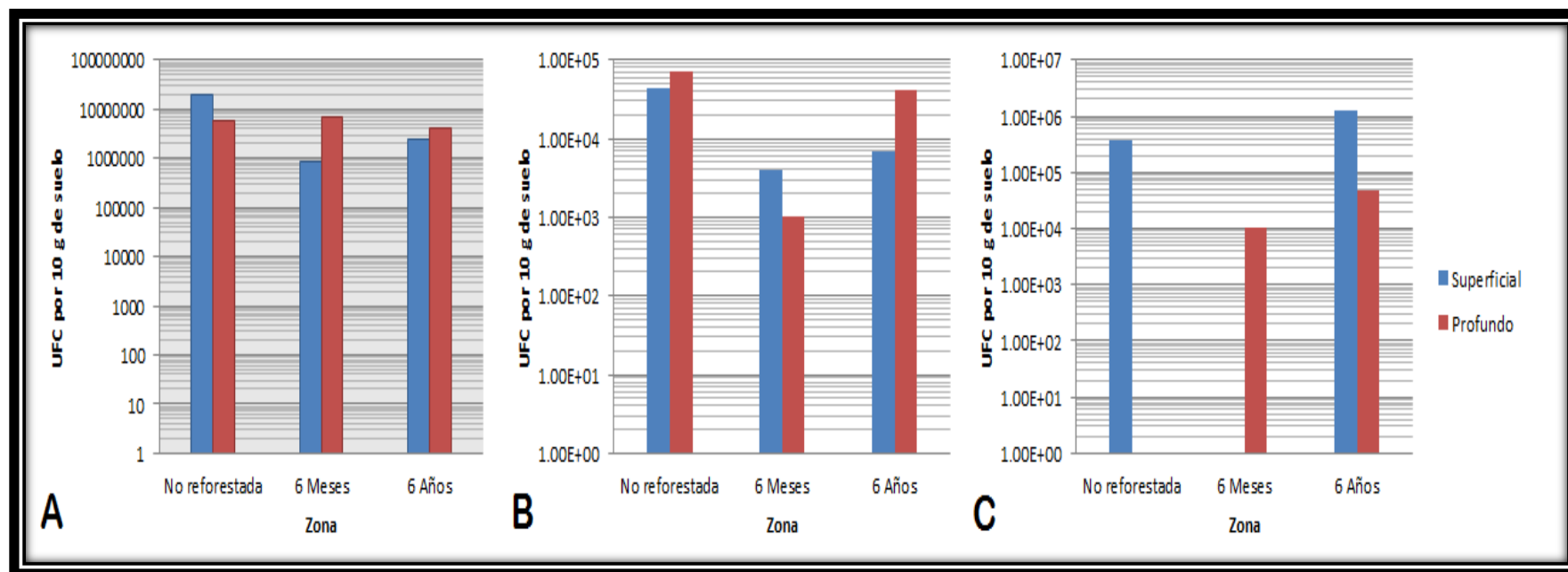


Imagen 6. Gráficas de recuento de carga microbiana de las muestras de suelo colectadas. A) Recuento de Aerobios Mesófilos, B) Recuento de Bacterias Esporulantes Anaerobias, C) Recuento de Mohos y Levaduras.

pH, contenido de humedad y carbono oxidable

Las propiedades físico-químicas realizadas en este estudio preliminar muestran suelos principalmente de pH neutro o ligeramente ácido (Tabla 2 del Anexo 4, Imagen 7), contenido de humedad superior al 20% de las muestras (Tabla 4) y con un porcentaje de carbono oxidable mayor en los suelos de tipo superficial (Tabla 5).

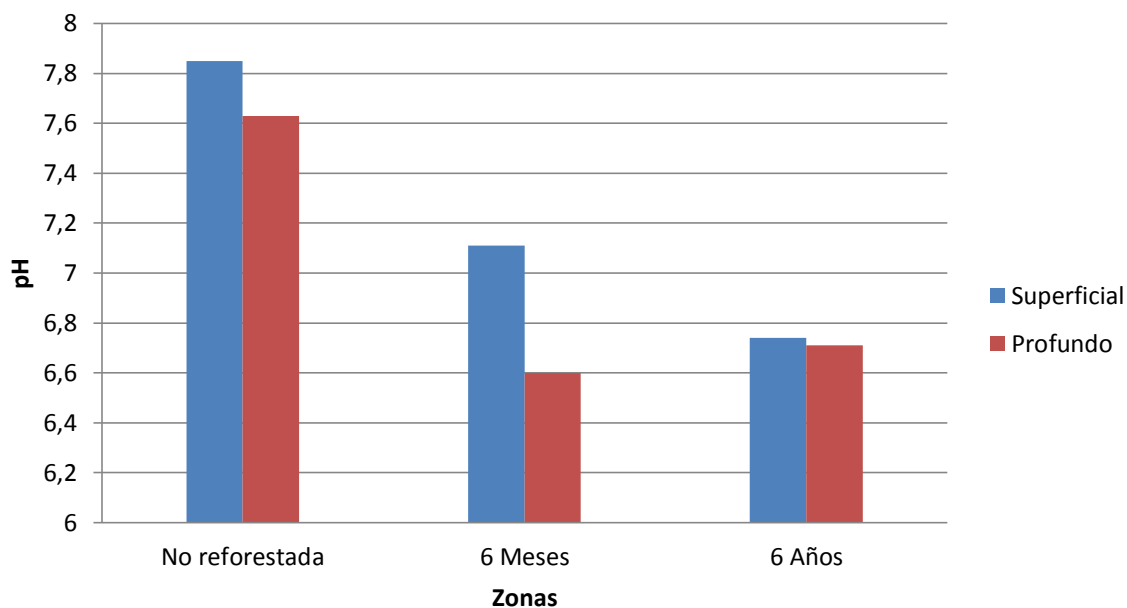


Imagen 7. Gráfica de pH obtenido para las muestras colectadas.

Tabla 4. Contenido de humedad de las muestras de suelo colectadas.

Zona	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	% Humedad*
No reforestada			
Superficial	10.01	5.77	42.35
Profundo	10.17	7.34	27.83
6 Meses			
Superficial	10.12	7.94	21.54
Profundo	10.10	7.90	21.78
6 Años			
Superficial	10.09	7.45	26.16
Profundo	10.58	8.10	23.44

*** Se utilizó la Ecuación 1.**

Tabla 5. Porcentaje de Carbono oxidable de las muestras de suelo colectadas.

Zona	Cantidad de suelo procesado (g)	C obtenido (mg)	% CO*
No reforestada			
Superficial	0.2095	0.3011 (\pm 0.0170)	14.37 (\pm 0.81)
Profundo	0.2036	0.0562 (\pm 0.0018)	2.76 (\pm 0.08)
6 Meses			
Superficial	0.2019	0.0836 (\pm 0.0217)	4.14 (\pm 1.07)
Profundo	0.2009	0.0290 (\pm 0.0036)	1.44 (\pm 0.18)
6 Años			
Superficial	0.2037	0.2516 (\pm 0.0119)	12.34 (\pm 0.58)
Profundo	0.2086	0.0131 (\pm 0.0038)	0.74 (\pm 0.16)

*** Se utilizó la Ecuación 2**

Soporte estadístico

Estadísticamente no se obtuvo ningún resultado concluyente, pues todos los valores P obtenidos dieron mayor de 0.05 Tabla 6. En Anexo 3 puede observar los análisis crudos obtenidos en ME2010.

Tabla 6. Valores P obtenidos por análisis de varianzas de dos factores.

Factor	RAM	RBEA	RML
Zona	0.53	0.14	0.46
Profundidad	0.71	0.21	0.24

Discusión y conclusiones

El presente estudio evaluó por primera vez la calidad de los suelos del humedal Laguna La Herrera, haciendo énfasis en los procesos de restauración, a través de la reforestación de las zonas de ronda, que se adelantan desde la jurisdicción del Municipio de Mosquera. A pesar que no se encontraron resultados concluyentes de manera estadística, se observó un incremento en el recuento de mohos y levaduras en relación a las plantaciones de mayor edad, lo que puede estar relacionado con la solubilización de fosfatos, incremento en la habilidad del suelo en filtrar agua y la acidificación del medio. Sin embargo, la minería puede estar jugando un papel altamente negativo por la intensificación de procesos de acidificación en los suelos de estas zonas.

Los hongos son indicadores de procesos de solubilización de fosfatos. Aunque las diferencias observadas en este estudio no son concluyentes debido a la baja robustez estadística (Tabla 6), es posible realizar ciertas interpretaciones con base en las tendencias observadas. Se observó un incremento en el recuento de unidades formadoras de colonias fúngicas en relación a la edad de las plantaciones, siendo mayor en la zona con plantaciones de 6 años y

observándose una diferencia notoria entre la zona sin reforestar y en aquellas que si lo estaban (Tabla 1 Anexo 4, Imagen 6C). Los mohos y las levaduras son típicos indicadores de acidez o de procesos de acidificación en los suelos, pues en condiciones de estrés nutricional, las plantas y los hongos producen ácidos orgánicos que facilitan la obtención de fósforo a partir de complejos con metales que se encuentran usualmente en estos suelos (Fujii, 2014); esto podría estar altamente relacionado con los resultados de pH obtenidos en este estudio, pues se observó una disminución en relación a la edad de las plantaciones (Imagen 7), lo anteriormente descrito se relaciona con lo mencionado por Romero y colaboradores 2009, quienes consideran que los rangos ideales para el crecimiento de cultivos está entre un pH de 6 y 7,5, especificando además que este indicador afecta estrechamente la relación suelo-planta y a la disponibilidad de agua y nutrientes para plantas y microorganismos (Romero, Santamaría, & Zafra, 2009). Adicionalmente, la presencia de estos hongos cultivables puede estar relacionado con la colonización progresiva de micorrizas, que son hongos endofíticos que le ayudan a las plantas en la obtención de agua y fosfatos para su crecimiento (Roy, Bolduc, & Hijri, 2011), así como en la reducción de contaminantes (Leal, 2016) lo que muy probablemente pueda indicar que ante la presencia de micorrizas

puede haber un mayor aprovechamiento de nutrientes lo que genera una mayor capacidad productiva en las plantas, entendiendo así que la reforestación está ayudando a mejorar la calidad del suelo, dando lugar a nuevas investigaciones, que profundicen mucho más sobre todo lo relacionado entre la interacción hongos, micorrizas y el componente suelo de la Laguna de la Herrera (Baar, 2010).

La acidificación puede estar igualmente relacionada con problemas de fertilidad en el suelo. Como se mencionó anteriormente, estos procesos de leve acidificación, que parecen estar ocurriendo en las zonas de ronda de este ecosistema de humedal, puede estar ayudando en la obtención de ciertos nutrientes y la disminución de algunos contaminantes a largo plazo, se observó en este estudio que no hay diferencia notoria en la carga de bacterias en relación a las edades de las plantaciones (Tabla 1 del Anexo 4, Imagen 6A, Imagen 6B), pues se encontró una carga de microorganismos mesófilos aerobios estable a través del tiempo en el suelo de tipo profundo, así como también variaciones en los suelos de tipo superficial. Para el caso de recuento de bacterias esporuladas anaerobias se observó que en relación a las edades de los suelos hubo una variación proporcional más notoria en suelos superficiales y

profundos respectivamente. Esto deja ver la variabilidad de la capacidad de mineralización y descomposición de los residuos orgánicos en esta zona, puesto que de allí las bacterias obtienen su fuente alimenticia y energética. Por medio de su metabolismo se liberan sustancias al medio como proteínas, enzimas, metabolitos reguladores de crecimiento y algunos nutrientes, las cuales para el caso de las anaerobias reaccionan haciendo parte de los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, carbono y azufre, que son de gran importancia para el entorno ecosistémico de la laguna de La Herrera (Acuña, y otros, 2006).

Sumado a lo anterior se hace preocupante que en los suelos de tipo profundo, se evidencia la ausencia constante de bacterias del género *Pseudomonas*. Estas bacterias, especialmente *Pseudomonas fluorescens*, son de gran importancia en los procesos de reforestación ya que ayudan a proteger el sistema radicular de las plantas de los patógenos, promueven el crecimiento vegetal y producen compuestos quelantes de iones metálicos (Cano, 2011); Mascher et al. 2014; Aguado-Santacruz et al. 2012; sin embargo, diferentes estudios muestran que los procesos de acidificación pueden reducir su competitividad, y el de otras bacterias (Rousk et al 2009),

desencadenando problemas de fertilidad de mayor magnitud. Adicionalmente, se ha reportado que las bacterias del género *Pseudomonas* pueden perder rasgos que permiten sean cultivadas en el laboratorio.

Se presentó una humedad con valores no muy variables para las tres edades de suelo estudiadas, sobresaliendo la de tipo superficial en la zona no reforestada, al parecer por la cercanía que esta tiene al espejo de agua de la laguna frente a las demás, lo que sugiere que el contenido de humedad del suelo, pueda estar relacionada con los resultados de los análisis de bacterias entendiendo que este factor afecta a la población microbiana puesto que a medida que el agua se va secando, películas se ven más finas, afectando directamente la disponibilidad de agua y las células y sus relaciones osmóticas, aclarando entonces también que las bacterias se desarrollan mejor en un ambiente más húmedo. Por el contrario los hongos, difieren de las bacterias debido a que sus hifas no necesitan crecer en una película continua de agua sino que pueden traspasar espacios abiertos al aire y así efectuar sus funciones en condiciones menos húmedas (Julca Otiniano, Meneses Florián, Blas Sevillano , & Bello Amez, 2006).

Los procesos de minería están contribuyendo al problema de fertilidad del suelo. Aunque el recuento de mohos y levaduras puede ser alentador en relación a su posible asociación con la estrategia natural para la obtención de nutrientes (Fujii 2014; Roy-Bolduc & Hijri, 2011; Leal, 2016) que se pueda estar dando en la Laguna La Herrera. El recuento uniforme de bacterias, especialmente la ausencia del género *Pseudomonas*, en los resultados de este estudio, pueden estar indicando un desequilibrio microbiano y el bajo aporte de nutrientes propicio para el crecimiento de plantas de estos suelos. Este desequilibrio puede estar estrechamente vinculado con la labor de minería de materias pétreas llevadas a cabo alrededor de este ecosistema de humedal, debido a que esta industria genera un drenaje ácido rico en sulfuros y óxidos de sulfuro y la contaminación por metales pesados (Martinez & Martín Romero, 2015) (Silva & Correa, 2009). A esto se le puede sumar, una falta en la adición de materia orgánica, lo que estaría relacionado con el bajo porcentaje de carbono oxidable obtenido (Tabla 5), que pueda compensar el impacto brindado por los lixiviados de las minerías y que hace este ambiente mucho más hostil en términos de colonización microbiana y la restauración de propiedades físico-químicas del suelo.

Este estudio es la primera caracterización realizada en este ecosistema que busca complementar las estrategias de restauración implementadas por los organismos de regulación del lugar. También se hace necesaria la información obtenida del estudio ya que Según Rojas y colaboradores 2014 es indispensable considerar el suelo y el subsuelo como base del modelo de la ordenación del territorio y adoptarlos dentro de la normativa de la política pública con el fin de salvaguardar y mantener la continuidad de la oferta de los beneficios ecosistémicos que proporciona al ser humano, así como la biodiversidad. Se espera que este trabajo brinde un punto de partida para realizar una caracterización más profunda de las propiedades físico-químicas y microbiológicas de estos suelos, y que a su vez, al alcanzar la robustez estadística, brinden bases sólidas para tomar acción en relación a los procesos de minería local que igualmente se desarrollan de manera paralela.

Lista de Referencias

- Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales Franklin, Delgado, E., y otros. (2006). *LA IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA CALIDAD Y SALUD DE SUELOS*. Obtenido de file:///C:/Users/user/Downloads/IN060651_spa.pdf
- Aguado-Santacruz, c. (2012). *Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100004
- Arias, C., Bayona, M., & Sandoval, J. (Marzo de 2010). *Política Nacional para la Gestión Integral del recurso Hídrico*. Obtenido de http://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/Presentaci%C3%B3n_Pol%C3%ADtica_Nacional_-_Gesti%C3%B3n/libro_pol_nal_rec_hidrico.pdf
- Asociación Española de Ecología Terrestre AEET. (Mayo de 2005). *Ecosistema-Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/16361284.pdf>
- Baar, J. (2010). *Development of soil quality metrics using mycorrhizal fungi. Spanish Journal of Agricultural Research, 8(SPL ISS.), S137-S143*. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unad.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&>
- Betancur-Vargas, T., García-Giraldo, D., Velez Duque, A., Gómez, A., Florez-Ayala, C., Patiño, J., y otros. (2017). *Aguas Subterráneas, humedales y servicios ecosistémicos en Colombia. Biota Colombiana, 18 (1), 1-28*. Obtenido de <https://bibliotecavirtual.unad.edu.co:2444/10.21068/c2017.v18n01a1>
- Cano, M. A. (2011). *Interacción de Microorganismos Benéficos en PLANTAS: Micorrizas, Trichoderma spp. y Pseudomonas*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a03.pdf>
- colaboradores, R. y. (2014). *Biodiversidad y servicios ecosistémicos en la gestión del suelo y subsuelo*. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unad.edu.co:2139/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=2&sid=39c400a7-34e4-4116-aca0-f087c3a74fff%40pdc-v-sessmgr06>

- Corrales, L. C., Antolinez Romero, D. M., Bohoquez Macías, J. A., & Corredor Vargas, A. M. (11 de 11 de 2015). *Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a06.pdf>
- Definición ABC. (s.f.). *Definición de la explotación minera*. Obtenido de <https://www.definicionabc.com/economia/explotacion-minera.php>
- Delgado, M. (2018). *Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal*. Obtenido de https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Los_microorganismos_del_suelo_en_la_nutrici%C3%B3n_vegetal.
- Ecología, A. E. (Mayo de 2004). *La Calidad del suelo y sus indicadores*. Obtenido de file:///C:/Users/user/Downloads/572-1080-1-SM%20(1).pdf
- Fernandez, L. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. Obtenido de <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2011/CG008215.pdf>
- Fernández, L., Ramirez, N., & González, M. (Junio de 2013). *Reforestación con Cupressus lusitanica y su influencia en la diversidad del bosque de pino-encino en Los Altos de Chiapas, México*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-42982013000200008&script=sci_arttext
- Fujii, K. (27 de 04 de 2014). *Acidificación del suelo y adaptaciones de plantas y microorganismos en los bosques tropicales de Borneo*. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s11284-014-1144-3>
- García, A. (7 de Agosto de 2010). *Hidrografía de Colombia*. Obtenido de <https://www.todacolombia.com/geografia-colombia/hidrografia-colombia.html>
- García, C., Piñeros, B., Bernal Quiroga, F., & Ardila Robles, E. (2012). *Variabilidad Climática, cambio climático y el recurso Hídrico en Colombia. Revista de Ingeniería, (36), 60-64*. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unad.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=zbh&AN=87049764&lang=es&site=eds-live>.
- Globe. (2015). *Protocolo del PH del suelo*. Obtenido de http://www.globeargentina.org/guia_del_maestro_web/suelos/protocolos/protphdelsuelo.pdf

- Goma, Tchimbakala, & Makosso. (2008). *Materia orgánica del suelo y cambios biológicos en un bosque natural - plantado*. Obtenido de <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/jas/2008/4346-4353.pdf>
- Gonzalez, N. (2017). *Desafíos de la Gobernanza ambiental: una aproximación a las implicaciones de la Gestión Integrada del Recurso Hídrico en Colombia*. (Spanish). *Ciencia Política*, 12(23), 205. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unad.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edb&AN=122282033&lang=es&site=eds-live>
- Hernandez, J. (2016). *DETERMINACIÓN DE MESÓFILOS AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALIS EN EL CULTIVO DE CILANTRO (Coriandrum sativum L.), PRODUCIDO EN TRES MUNICIPIOS DEL ESTADO DE MÉXICO.* Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/65576/Gerardo%20Daniel%20de%20Jes%C3%BA%20Hernandez.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- IDEAM. (Mayo de 2015). *Estudio Nacional del Agua 2014*. Obtenido de http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/023080/ENA_2014.pdf
- Julca Otiniano, A., Meneses Florián, L., Blas Sevillano, R., & Bello Amez, S. (2006). *LA MATERIA ORGÁNICA, IMPORTANCIA Y EXPERIENCIA DE SU USO EN LA AGRICULTURA*. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-34292006000100009&script=sci_arttext&tlng=pt
- Leal, C. (2016). *Enriquecimiento de hongos micorrízicos arbusculares en un suelo contaminado después de la rehabilitación*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1517838216305251>
- López, E. P. (Diciembre de 2013). *Análisis de fertilidad de suelos en el laboratorio de Química del Recinto de Grecia, Sede de Occidente*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/666/66629448001.pdf>
- López, M. C. (2015). *Guías para el Laboratorio de Bacteriología*. Bogotá: Siglo del Hombre Editores.
- Martinez, I., & Martín Romero, F. (2015). *Uso de parámetros indirectos para la evaluación de la contaminación de suelos por metales pesados en una zona minera de San Luis Potosí, México*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-33222015000100001&script=sci_abstract

- Mascher, C. y. (2014). *La capacidad de cultivo celular de Pseudomonas protegens CHA0 depende del pH del suelo*. Obtenido de <https://academic.oup.com/femsec/article/87/2/441/481966>
- Mckean, S. J. (Agosto de 1993). *Manual de Análisis de Suelos y Tejido Vegetal*. Obtenido de http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/digital/S593.M2_Manual_de_an%C3%A1lisis_de_suelos_y_tejido_vegetal_Una_gu%C3%ADa_de_t%C3%B3rica_y_pr%C3%A1ctica_de_metodologia.pdf
- Miranda, T. (Octubre de 2007). *Carbono secuestrado en ecosistemas agropecuarios cubanos y su valoración económica. Estudio de caso*. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942007000400007
- Moreno, J. E. (26 de Mayo de 2011). *Fundación Humedales Bogotá*. Obtenido de <http://humedalesbogota.com/2011/05/26/mineria-en-la-laguna-de-la-herrera/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (1996). *Ecología y Enseñanza Rural, Nociones ambientales básicas para profesores rurales y extensionistas*. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/006/W1309S/w1309s00.htm#TopOfPage>
- Organización de las Naciones Unidas para la educación, la Ciencia y la Cultura, Unesco. (2017). *Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas*. Obtenido de https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/scan_certified_s.pdf
- Organización Meteorológica Mundial-cap 4. (2011). *Guía de Prácticas Hidrológicas*. Obtenido de http://www.wmo.int/pages/prog/hwrr/publications/guide/spanish/168_Vol_I_es.pdf
- Pascual, R., & Venegas, S. (2018). *La Materia Orgánica del Suelo, papel de los Microorganismos*. Obtenido de <https://www.ugr.es/~cjl/MO%20en%20suelos.pdf>
- Pedraza, R., Teixeira, K., & Fernández, A. (Noviembre de 2010). *Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos*. Obtenido de <file:///C:/Users/user/Downloads/206-Texto%20del%20art%C3%ADculo-594-1-10-20131228.pdf>
- Pérez, C. y. (Julio de 2002). *Política Nacional para Humedales Interiores de Colombia*. Obtenido de

- http://www.minambiente.gov.co/images/BosquesBiodiversidad/ServiciosEcosistemas/pdf/Normativa/Políticas/polit_nal_humedales_int_colombia.pdf
- Pérez, T., & Sabogal, A. (2015). *FORMULACIÓN DE ESTRATEGIAS DE MANEJO AMBIENTAL PARA LOS IMPACTOS AMBIENTALES GENERADOS POR PROCESOS DE MINERÍA A CIELO ABIERTO EN EL HUMEDAL LAGUNA DE LA HERRERA*. Obtenido de <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/8118/PROYECTO%20DE%20GRADO%20TANIA%20PEREZ-ALEJANDRA%20SABOGAL%20PDF.pdf?sequence=1>
- Periódico El Tiempo. (13 de Enero de 2011). *Más Industrias un Nuevo Riesgo para Laguna en Mosquera*. Obtenido de <https://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-4340419>
- Porta Casanellas, J., Lopez, Acevedo, M., & Roquero, C. (Julio de 2003). *Edafología para la agricultura y el Medio Ambiente*. Obtenido de <http://bosques.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/14463/Libre03.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Programa LIFE de la Unión Europea. (2004). *Restauración de Humedales- Manejo Sostenible de Humedales y Lagos Someros*. Obtenido de http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=LIVING_LAKES_manual_ES.pdf
- RAMSAR. (2017). *La Importancia de los Humedales*. Obtenido de <https://www.ramsar.org/es/acerca-de/la-importancia-de-los-humedales>
- Revista de Salud Pública y Nutrición. (2011). *Producción y aprovechamiento del Nopal y Maguey*. Obtenido de [file:///C:/Users/user/Downloads/\(16\)_rigo_vazquez-reforestacion_con_nopal_y_maguey2.pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/(16)_rigo_vazquez-reforestacion_con_nopal_y_maguey2.pdf)
- Romero, M., Santamaría, D., & Zafra, C. (2009). *Bioingeniería y Suelo: Abundancia microbológica, pH y conductividad eléctrica, bajo tres estratos de erosión*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/html/304/30415144008/>
- Rousk, C. (2009). *Los efectos contrastantes del pH del suelo sobre el crecimiento fúngico y bacteriano sugieren una redundancia funcional en la mineralización del carbono*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2655475/>
- Roy, A., Bolduc, & Hijri, M. (Junio de 2011). *El uso de micorrizas para mejorar la absorción de fósforo: una salida a la crisis del fósforo*. Obtenido de <https://www.omicsonline.org/the-use-of->

- mycorrhizae-to-enhance-phosphorus-uptake-a-way-out-the-phosphorus-crisis-2155-6202.1000104.php?aid=1520
- Salazar Lopez Liliana. (Diciembre de 2006). *Revisión y Ajuste de los Planes de Manejo Ambiental de los Humedales de Neuta, Tierra Blanca, Laguna de la Herrera y Humedal el Yulo de Acuerdo con lo establecido en la Resolución 157 de 2004 del MAVDT*. Obtenido de Corporacion Autónoma Regional de Cundinamarca: <https://www.car.gov.co/uploads/files/5ac7e6b135ce0.pdf>
- Silva, S., & Correa, F. (15 de Mayo de 2009). *Análisis de la Contaminación del Suelo: Revisión de la Normativa y Posibilidades de Regulación Económica*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/seec/v12n23/v12n23a2.pdf>
- Soraya, P. (2006). *Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera*. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942007000400007
- Suárez, L. (2012). *leonardoguiza@yahoo.con(n.d)*. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unad.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=lgs&AN=73825136&lang=es&site=eds-live>
- Tovar, N. G. (2013). *ANÁLISIS PRELIMINAR DE LOS IMPACTOS AMBIENTALES Y SOCIALES GENERADOS POR LA MINERÍA DE ARCILLAS A CIELO ABIERTO EN LA VEREDA EL MOCHUELO BAJO, CIUDAD BOLÍVAR, BOGOTÁ D.C., ESTUDIO DE CASO. BOGOTÁ*. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12467/GarzonTovarLigiaNathalya2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- UNESCO. (1992). *Declaración de Rio sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo*. Obtenido de http://www.unesco.org/education/pdf/RIO_S.PDF
- Universidad Nacional de Colombia. (21 de Mayo de 2010). *Minería acaba último gran humedal de la Sabana de Bogotá*. Obtenido de <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/mineria-acaba-ultimo-gran-humedal-de-la-sabana-de-bogota.html>

Anexo 1



Figura1. Preparación de materiales de laboratorio

Fuente: Propia, registro trabajo de laboratorio



Figura 2. Esterilización de materiales

Fuente: Propia, registro trabajo de laboratorio



Figura 3. Preparación de medios de cultivo

Fuente: Propia, registro trabajo de laboratorio



Figura 4. Toma de pesos de suelo

Fuente: Propia, registro trabajo de laboratorio

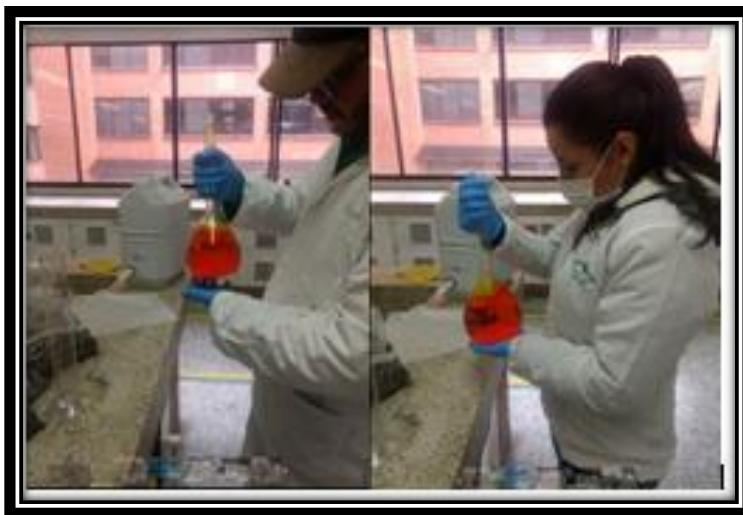


Figura 5. Preparación prueba de carbono Fuente: Propia, registro trabajo de laboratorio



Figura 6. Análisis en espectrofotómetro, muestras de carbono

Fuente: Propia, registro trabajo de laboratorio

Anexo 2

Protocolos Análisis De Laboratorio de Muestras de Suelo

Se requiere conocer el número de microorganismos vivos presentes, ya que cuando las bacterias están vivas son capaces de formar colonias sobre un medio de cultivo sólido, es por esto que el número de colonias en un medio sólido es llamado como el número viable y se expresa en unidades formadores de colonias

El siguiente es un protocolo tomado de Vanegas López 2015 con algunas modificaciones, para los análisis de microorganismos aerobios mesófilos, *Pseudomonas*, bacterias esporulantes y Mohos y Levaduras.

Para estos procedimientos deben realizarse diluciones seriadas las cuales consisten en diluir secuencialmente una muestra en algún diluyente estéril. Para este caso se utilizará agua destilada (AD), por medio de la cual se suspenden los microorganismos, sin que pierdan su viabilidad.

Para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) se hace una siembra masiva en superficie (0,1ml, sobre el medio solidificado) o en fondo (1,0 ml, antes de adicionar el medio fundido a la caja) a

diferentes diluciones, se incuban las cajas invertidas y se hace el conteo de colonias crecidas, es importante que el número de colonias que se desarrollan en las cajas de Petri no sea muy grande, ya que si hay muchas bacterias, las células no pueden formar colonias aisladas, se fusionan o superponen, generando inexactitud en el recuento.

Materiales y Métodos

-Medios de Cultivo

- 1 Erlenmeyer con 90ml de agua destilada (AD)
- 1 Erlenmeyer con 150 ml de agar SPC líquido
- 1 Erlenmeyer con 150 ml de agar SPS fundido
- 8 tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada
- 3 cajas de agar cetrimide

Reactivos

- Bolsas generadoras de anaerobiosis

Otros

- Rastrillos estériles o instrumentos de vidrio o plástico estériles para distribuir el inóculo en la superficie de las cajas
- Pipetas
- Pipeteadores
- Rastrillo estéril
- Cámara de anaerobiosis
- Refrigerador
- Incubadora de 37 °C
- Autoclave

Nota: Los materiales utilizados fueron esterilizados en autoclave

Análisis Microorganismos Aerobios Mesófilos

La cuantificación de este grupo microbiano permite determinar de forma general la carga microbiana que se encuentra presente en una muestra.

Pasos

1. Homogenización de la muestra de suelo
2. Pesar 10 gr de suelo en condiciones de esterilidad.
3. Adicionar la muestra a 90 ml de agua destilada (AD)
4. Realizar diluciones seriadas en agua destilada (AD) hasta 10^{-5}
5. Sembrar en medios de cultivo en agar SPC en superficie, diluciones 10^{-3} , 10^{-5} (siembras por duplicado).
6. Incubar las cajas a 35°C por 48 h
7. Realizar recuentos y observar colonias típicas de cada uno de los microorganismos aislados en microscopio de luz.

Análisis *Pseudomonas* spp

Pasos

1. Homogenización de la muestra de suelo
2. Pesar 10 gr de suelo en condiciones de esterilidad.
3. Adicionar la muestra a 90 ml de agua destilada (AD)
4. Realizar diluciones seriadas en agua destilada (AD) hasta 10^{-5}
5. Sembrar en medios de cultivo en agar cetrimide en superficie, diluciones -3 , -5 (siembras por duplicado).
6. Incubar las cajas a 35°C por 48 h
7. Realizar recuentos y observar colonias típicas de cada uno de los microorganismos aislados en microscopio de luz

Análisis recuento de bacterias esporuladas anaerobias

Pasos

1. Homogenización de la muestra de suelo
2. Pesar 10 gr de suelo en condiciones de esterilidad.
3. Adicionar la muestra a 90 ml de agua destilada (AD)
4. Realizar diluciones seriadas en agua destilada (AD) hasta 10^{-5}
5. Luego sembrar 1 ml en fondo en agar SPS.

6. Sembrar en medios de cultivo en agar SPS en fondo, diluciones - 3, 5 (siembras por duplicado), agitar y dejar enfriar.
7. Incubar en anaerobiosis (cámaras de anaerobiosis, sobres de AnaeroGen™ de 2.5L y verificados con indicador anaeróbico con solución de resazurina (Oxoid)
8. Realizar recuentos y observar colonias típicas de cada uno de los microorganismos aislados en microscopio de luz.

Recuento de Mohos y Levaduras

Pasos

1. Homogenización de la muestra de suelo
2. Pesar 10 gr de suelo en condiciones de esterilidad
3. Adicionar la muestra a 90 ml de agua destilada (AD)
4. Realizar diluciones seriadas en agua destilada (AD) hasta 10⁻⁵
5. Sembrar en medios de cultivo en agar extracto de Malta + antibiótico cloranfenicol, en superficie, diluciones -3 y 5 (siembras por duplicado).
6. Dejar solidificar.
7. Invertir e incubar las cajas a temperatura ambiente de 5 a 8 días.

8. Pasado este tiempo se deben contar las colonias que hayan crecido en cajas que contengan colonias observables.

Análisis de ph del suelo

Método utilizado con algunas modificaciones por Globe 2005

Materiales

- Suelo seco
- Agua destilada
- Cilindro graduado de 100 ml
- Cuadro recipientes de 100 ml
- Balanza (de precisión de 0,1 g)
- Hoja de registro de ph
- varilla de cristal o utensilio para remover
- Espátula
- Ph-metro

1. Mezclar en un vaso de precipitados 40 g de suelo seco tamizado, con 40 ml de agua destilada (u otra cantidad en proporción de suelo y agua 1:1). Para manipular el suelo se

utiliza espátula.

2. Remover bien la mezcla suelo/agua con una varilla de cristal durante 30 segundos y dejar reposar tres minutos. Repetir este proceso cinco veces. Después dejar que la muestra vaya decantando hasta que se forme un sobrenadante (líquido claro sobre el suelo depositado), alrededor de cinco minutos.
3. Medir el pH del sobrenadante utilizando un pH-metro, introduciendo el pH-metro calibrado en el sobrenadante.
4. Registrar el valor de pH en la Hoja.

Análisis de humedad del suelo

Este método es tomado de la Organización Meteorológica Mundial-cap4 2011, señalado como gravimétrico el cual es uno de los métodos directos utilizados para medir la humedad del suelo.

Pasos

- Las muestras de suelo húmedo se pesan individualmente según clasificación por tipo de suelo.
- Las muestras se colocan en un horno secador que es capaz de mantener una temperatura de $105 \pm 0,50$ C.

- Después del secado registrar peso cada hora hasta llegar a un peso constante.
- Una vez llegue al peso constante, tomar el peso de las muestras de suelo según su clasificación una a una.
- Se calcula el contenido de humedad del suelo, siendo ésta la medida de su contenido de agua original.

Para finalizar se utiliza la siguiente ecuación así:

$$\% Humedad = \left(\frac{g \text{ Peso seco} - g \text{ Peso húmedo}}{g \text{ Peso húmedo}} \right) * 100\%$$

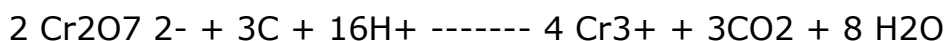
Si las muestras contienen gravas y piedras, el procedimiento antes mencionado se puede modificar si los pesos o volúmenes de la grava y/o las piedras pueden determinarse separadamente.

Análisis carbono

Se utiliza el siguiente método según lineamientos del Manual de Análisis de suelos y tejido vegetal de Mckean, 1993.

Principio

Para determinar el contenido de Carbono Orgánico se usan varios procedimientos basados la mayoría, en una oxidación húmeda. Se utiliza un procedimiento modificado de Walkley y Black (1934,) el cual consiste en oxidar la muestra en una solución de Dicromato de Potasio, aprovechando el calor producido por la dilución de ácido Sulfúrico concentrado.



El ácido Crómico producido se puede medir colorimétricamente a 620nm. La oxidación no es completa en el procedimiento automatizado para la determinación de Carbono de Walkley y Black, por lo tanto se estima que en promedio se oxida el 76 % del carbono total. Se sugirió un factor de conversión de 1.32 para calcular el contenido de co en el suelo.

En este método se recomienda reportar los resultados como carbono oxidable.

Una vez terminada la oxidación se determina el CO por medio de Colorimetría en usar ácido crómico producido durante la oxidación, para leer a 620nm utilizando patrones de sacarosa.

Equipos

Balanza Equipo de Espectrofotometría Automatizada o Manual.

Equipo usual en el Laboratorio

- Erlenmeyer de 250 ml

- Pipetas

- Tubos de ensayo

Reactivos:

1-Ácido sulfúrico. Grado analítico 96 % (H_2SO_4). Se necesita 20 ml de ácido por cada muestra y estándar.

2-Dicromato de potasio 0.17 M ($K_2Cr_2O_7$).

Pese 50g Y disuelva en agua. Lleve a volumen de 1 l. Se necesita 10 ml de esta solución por cada muestra y estándar.

3-Solución Patrón.

Sacarosa. Grado analítico ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Seque la sacarosa en el horno a una temperatura de $105^{\circ}C$ durante dos horas y deje enfriar. Pese 29.69 g de sacarosa, disuelva en agua y lleve a 250 ml. Esta solución contiene 50 mg C ml⁻¹. Guarde esta solución patrón en la nevera.

4- Soluciones patrones de trabajo.

Tome de la solución patrón, alícuotas de 2, 10, 25 ml y lleve con agua a volumen en balones de 100 ml. Las soluciones contienen 1, 5 y 12.5 mg C ml⁻¹ respectivamente. Coloque 2 ml de cada una de las soluciones preparadas en un erlenmeyer de 250 ml.

Seque completamente en el horno a una temperatura de $105^{\circ}C$ y deje enfriar. De esta manera cada uno contiene 2, 10, 25 mg de C

Procedimiento

1- Pese en un Erlenmeyer de 250 ml, 0.5000 g de suelo seco.

Si el suelo es negro y contiene raíces pese menos (0.2500 a 0.1250 g)

2-Con una repipeta agregue 10 ml de dicromato de potasio 0.17 M a las muestras de suelo y a los estándares y agite bien.

3- Con una repipeta agregue 20 ml de H_2SO_4 a las muestras y los patrones de trabajo, agite por espacio de un minuto. Deje en reposo por media hora para enfriar.

4-Agregue con una repipeta, 100 ml de agua, agite bien las muestras

y los patrones, deje en reposo durante la noche para asentar.

5-Trasvase la solución sobrenadante a tubos de ensayo teniendo cuidado de no mezclarla.

6-Usando los patrones calibre el espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm en concentración o absorbancia, Rango(mg/l), > 3.51, estándar de chequeo(mg/l) 100 o 150.

7-Lea las muestras y calcule la concentración de carbón oxidable (CO) en mg.

Cálculos

Para registrar el carbono oxidable en porcentaje se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% CO = \left(\frac{mg\ C}{g\ muestra} * \frac{1}{10} \right) * 100\%$$

Anexo 3

ANOVA para RAM

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
NO REFORESTADO	2	36774404.64	18387202.32	2.7595E+14
6 MESES	2	11118328.8	5559164.399	4.4792E+13
6 AÑOS	2	6923944.301	3461972.151	1.0496E+12
SUPERFICIAL	3	33697823.54	11232607.85	2.6885E+14
PROFUNDO	3	21118854.2	7039618.066	9.4376E+12

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	2.61146E+14	2	1.30573E+14	0.8839761	0.530792297	19
Columnas	2.63717E+13	1	2.63717E+13	0.17853596	0.713726935	18.51282051
Error	2.95422E+14	2	1.47711E+14			
Total	5.8294E+14	5				

ANOVA para RML

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
NO REFORESTADO	2	487100.263	243550.1315	1.18633E+11
6 MESES	2	5773.502692	2886.751346	16666666.67
6 AÑOS	2	1221056.641	610528.3203	6.39435E+11
SUPERFICIAL	3	1663064.406	554354.802	3.49115E+11
PROFUNDO	3	50866.00022	16955.33341	602108337

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	3.74547E+11	2	1.87273E+11	1.15284864	0.46450084	19
Columnas	4.33197E+11	1	4.33197E+11	2.66674798	0.24406611	18.51282051
Error	3.24888E+11	2	1.62444E+11			
Total	1.13263E+12	5				

ANOVA para RBEA

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
NO REFORESTADO	2	143672.3856	71836.19279	1374789478
6 MESES	2	3328.427125	1664.213563	2710786.44
6 AÑOS	2	50715.30806	25357.65403	881895430
SUPERFICIAL	3	52805.30498	17601.76833	589266628
PROFUNDO	3	144910.8158	48303.60526	2382059245

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	5097160237	2	2548580118	6.02863564	0.142275123	19
Columnas	1413904187	1	1413904187	3.34457336	0.208931955	18.51282051
Error	845491508.1	2	422745754			
Total	7356555932	5				

Anexo 4

Tabla 1. Recuento de microorganismos indicadores de calidad de suelo.

Zona	RAM (UFC/10 g suelo)	RBEA (UFC/10 g suelo)	RML (UFC/10 g suelo)
No reforestada			
Superficial	$1.90 \times 10^7 (\pm 3.01 \times 10^7)$	$4.33 \times 10^4 (\pm 4.92 \times 10^4)$	$3.60 \times 10^5 (\pm 5.54 \times 10^5)$
Profundo	$5.85 \times 10^6 (\pm 6.64 \times 10^6)$	$7.07 \times 10^4 (\pm 1.12 \times 10^5)$	-
6 Meses			
Superficial	$8.78 \times 10^5 (\pm 8.27 \times 10^5)$	$4.00 \times 10^3 (\pm 2.83 \times 10^3)$	-
Profundo	$7.11 \times 10^6 (\pm 1.03 \times 10^7)$	$1.00 \times 10^3 (\pm 0.00)$	$1.00 \times 10^4 (\pm 0.00)$
6 Años			
Superficial	$2.38 \times 10^6 (\pm 2.74 \times 10^6)$	$7.00 \times 10^3 (\pm 2.83 \times 10^3)$	$1.30 \times 10^6 (\pm 1.02 \times 10^6)$
Profundo	$4.06 \times 10^6 (\pm 4.19 \times 10^6)$	$4.17 \times 10^4 (\pm 5.07 \times 10^4)$	$4.73 \times 10^4 (\pm 4.67 \times 10^4)$

RAM = Recuento de Mesófilos Aerobios, RBEA = Recuento de Bacterias Esporulantes Anaerobias, RML = Recuento de Mohos y Levaduras, UFC = Unidades Formadoras de Colonia

Tabla 2. pH obtenido de las muestras de suelo colectadas.

Zona	pH	Clasificación
No reforestada		
Superficial	7.85	Neutro
Profundo	7.63	Neutro
6 Meses		
Superficial	7.11	Neutro
Profundo	6.60	Ligeramente ácido
6 Años		
Superficial	6.74	Ligeramente ácido
Profundo	6.71	Ligeramente ácido